BD BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F Culture Vials

Soybean-Casein Digest Broth in a Plastic Vial

English:	pages	1 – 4	Italiano:	pagine	10 – 12
Français :	pages	4 – 7	Español:	páginas	12 – 15
Deutsch:	Seiten	7 – 9	Português	páginas	15 – 18

CE

8089974(05)
2015-04

Contact your local BD representative for instructions. / Свържете се с местния представител на BD за инструкзии. / Pokyny vám poskytne místní zástupce společnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Ota yhteys lähimpään BD:n edustajaan ohjeiden saamiseksi. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviseletétől. / Нұсқаулар үшін жергілікті BD өкілімен хабарласыңыз. / Lai saņemtu norādījumus, sazinieties ar vietējo BD pārstāvi. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Neem contact op met uw plaatselijke BD-vertegenwoordiger voor instructies. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o representante local da BD para instruções. / Pentru instrucţiuni, contactaţi reprezentantul local BD. / Для получения указаний обратитесь к местному представителю компании BD. / Inštrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Kontakta närmaste BD-representant för anvisningar. / Talimatlar için yerel BD temsilcinizle temasa geçin. / За інструкціями зверніться до місцевого представника компанії BD.

INTENDED USE

BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F culture vials (prereduced enriched Soybean-Casein Digest broth with CO_2) are for anaerobic blood cultures. Principal use is with the **BACTEC** fluorescent series instruments for the qualitative culture and recovery of anaerobic microorganisms from blood.

SUMMARY AND EXPLANATION

The sample to be tested is inoculated into one or more vials which are inserted into the **BACTEC** fluorescent series instrument for incubation and periodic reading. Each vial contains a chemical sensor which can detect increases in CO_2 produced by the growth of microorganisms. The sensor is monitored by the instrument every ten minutes for an increase in its fluorescence, which is proportional to the amount of CO_2 present. A positive reading indicates the presumptive presence of viable microorganisms in the vial. Detection is limited to microorganisms that will grow in a particular type of medium.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

If microorganisms are present in the test sample inoculated into the **BACTEC** vial, CO_2 will be produced when the organisms metabolize the substrates present in the vial. Increases in the fluorescence of the vial sensor caused by the higher amount of CO_2 are monitored by the **BACTEC** fluorescent series instrument. Analysis of the rate and amount of CO_2 increase enables the **BACTEC** fluorescent series instrument to determine if the vial is positive; i.e., that the test sample contains viable organisms.

REAGENTS

The **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F culture vials contain the following active ingredients prior to processing:

List of Ingredients

Processed Water	40 mL
Soybean-Casein Digest Broth	2.75% w/v
Yeast Extract	0.2% w/v
Animal Tissue Digest	0.05% w/v
Dextrose	0.2% w/v
Hemin	0.0005% w/v
Menadione	0.00005% w/v
Sodium Citrate	0.02% w/v
Thiols	0.1% w/v
Sodium Pyruvate	0.1% w/v
Saponin	0.26% w/v
Antifoaming Agent	0.01% w/v
Sodium Polyanetholsulfonate (SPS)	0.035% w/v

All **BACTEC** media are dispensed with added CO_2. Anaerobic media are prereduced and dispensed with added CO_2 and N_2. Composition may have been adjusted to meet specific performance requirements.

Warnings and Precautions

For *in vitro* Diagnostic Use.

This Product Contains Dry Natural Rubber.

Pathogenic microorganisms, including hepatitis viruses and Human Immunodeficiency Virus, may be present in clinical specimens. "Standard Precautions"1-4 and institutional guidelines should be followed in handling all items contaminated with blood and other body fluids.

Prior to use, each vial should be examined for evidence of damage, contamination or deterioration. Vials displaying evidence of damage or contamination such as leakage, cloudiness, discoloration (darkening), bulging or depressed septum should not be used.

A contaminated vial could contain positive pressure. If a contaminated vial is used for direct draw, contaminated culture media could be refluxed into the patient's vein. Vial contamination may not be readily apparent. When using direct draw procedures, monitor the process closely to avoid refluxing materials into the patient.

On rare occasions, a vial may not be sealed sufficiently, which may result in the contents of the vial leaking or spilling. If the vial has been inoculated, treat the leak or spill with caution, as pathogenic organisms/agents may be present. Before discarding, sterilize all inoculated vials by autoclaving.

Positive culture vials for subculturing or staining, etc.: Before sampling it is necessary to release gas which often builds up due to microbial metabolism. Sampling should be performed in a biological safety cabinet if possible, and appropriate protective clothing, including gloves and masks, should be worn. See Procedure section for more information on subculturing.

To minimize the potential of leakage during inoculation of specimen into culture vials, use syringes with permanently attached needles or **Luer-Lok™** brand tips.

Storage Instructions

The **BACTEC** vials are ready for use as received and require no reconstitution or dilution. Store at 2 – 25 °C in a dry location, **out of direct light**.

SPECIMEN COLLECTION

The specimen must be collected using sterile techniques to reduce the chance of contamination. Published studies have shown that the recommended specimen volume is 8 – 10 mL.[5,6] It is recommended that the specimen be inoculated into the **BACTEC** vials at bedside. Most commonly, a 10 cc or 20 cc syringe with a **Luer-Lok** brand tip is used to draw the sample. If appropriate, a **Vacutainer™** brand Needle Holder and a **Vacutainer™** brand Blood Collection Set, **Vacutainer™ Safety-Lok™** Blood Collection Set or other tubing "butterfly" set may be used. If using a needle and tubing set (direct draw), carefully observe the direction of blood flow when starting sample collection. The vacuum in the vial will usually exceed 10 mL, so the user should monitor the volume collected by means of the 5 mL graduation marks on the vial label. When the desired 8 – 10 mL has been drawn, the flow should be stopped by crimping the tubing and removing the tubing set from the **BACTEC** vial. Sample volumes as low as 3 mL can be used, however, recovery will not be as great as with larger volumes. **The inoculated BACTEC vial should be transported as quickly as possible to the laboratory.**

PROCEDURE

Remove the flip-off cap from **BACTEC** vial top and inspect the vial for cracks, contamination, excessive cloudiness, and bulging or indented stoppers. **DO NOT USE** if any defect is noted. Before inoculating, swab the septum with alcohol (iodine is **not** recommended). Aseptically inject or draw directly 8 – 10 mL of specimen per vial. If sample volumes of 3 – 4 mL are used, recovery will not be as great as with larger volumes (see Limitations of the Procedure). **Inoculated anaerobic vials should be placed in the BACTEC fluorescent series instrument as soon as possible** for incubation and monitoring. If placement of an inoculated vial into the instrument has been delayed and visible growth is apparent, it should not be tested in the **BACTEC** fluorescent series instrument, but rather it should be subcultured, Gram-stained and treated as a presumptively positive bottle.

Vials entered into the instrument will be automatically tested every ten minutes for the duration of the testing protocol period. Positive vials will be determined by the **BACTEC** fluorescent series instrument and identified as such (see the appropriate **BACTEC** fluorescent series instrument User's Manual). The sensor inside the bottle will not appear visibly different in positive and negative vials, however the **BACTEC** fluorescent series instrument can determine a difference in fluorescence.

Blood will lyse immediately upon addition to the **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F Medium. The blood will appear chocolatized or very dark initially. If at the end of the testing period a **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F vial is observed to have a bulging septum, it should be subcultured, Gram-stained or treated as presumptive positive.

Positive vials should be subcultured and a Gram-stained slide prepared. In a great majority of cases, organisms will be seen and a preliminary report can be made to the physician. Subcultures to selective media and a preliminary direct antimicrobial susceptibility test may be prepared from fluid in the **BACTEC** vials.

Subculturing: Prior to subculturing, put the vial in an upright position, and place an alcohol wipe over the septum. To release pressure in the vial, insert a sterile needle with an appropriate filter or pledget through the alcohol wipe and septum. The needle should be removed after the pressure is released and before sampling the vial for subculture. The insertion and withdrawal of the needle should be done in a straight-line motion, avoiding any twisting motions.

For maximum yield of isolates, negative cultures may be checked by stain and/or subcultured at some point prior to discarding as negative.

QUALITY CONTROL

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent CLSI guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

DO NOT USE culture vials past their expiration date.

DO NOT USE culture vials that exhibit any cracks or defects; discard the vial in the appropriate manner.

Quality Control Certificates are provided with each carton of media. Quality Control Certificates list test organisms, including ATCC® cultures specified in the CLSI Standard, *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*.[7]

The range of time-to-detection in hours was ≤ 72 hours for each of the organisms listed on the Quality Control Certificate for this medium:

Clostridium perfringens ATCC 13124	*Bacteroides fragilis** ATCC 25285	*Bacteroides vulgatus* ATCC 8482
Streptococcus pneumoniae ATCC 6305	*Escherichia coli* ATCC 25922	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923
Clostridium histolyticum ATCC 19401		

*CLSI Strain

For information on Quality Control for the **BACTEC** fluorescent series instrument, refer to the appropriate **BACTEC** fluorescent series instrument User's Manual.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Contamination

Care must be taken to prevent contamination of the sample during collection and inoculation into the **BACTEC** vial. A contaminated sample will give a positive reading, but will not indicate a relevant clinical result. Such a determination must be made by the user based on such factors as type of organisms recovered, occurrence of the same organism in multiple cultures, patient history, etc.

Recovery of SPS Sensitive Organisms from Blood Samples

Because blood can neutralize the toxicity of SPS toward organisms sensitive to SPS (such as *P. anaerobius*), the presence of maximum volumes of blood (i.e., up to 10 mL) can help to optimize recovery of these organisms. To enhance the growth of SPS sensitive organisms when less than 8 mL of blood is inoculated, additional whole human blood may be added.

Some fastidious organisms, such as certain *Haemophilus* species, require growth factors, such as NAD, or factor V, which are provided by the blood specimen. If the blood specimen volume is 3.0 mL or less, an appropriate supplement may be required for recovery of these organisms. **BACTEC FOS™** Fastidious Organism Supplement may be used as a nutritional supplement.

Nonviable Organisms

A Gram-stained smear from culture medium may contain small numbers of nonviable organisms derived from media constituents, staining reagents, immersion oil, glass slides, and specimens used for inoculation. In addition, the patient specimen may contain organisms that will not grow in the culture medium or in media used for subculture. Such specimens should be subcultured to special media as appropriate.[8]

General Considerations

Optimum recovery of isolates will be achieved by adding 8 – 10 mL of blood.[5,6] Use of lower or higher volumes may adversely affect recovery and/or detection times. Blood may contain antimicrobials or other inhibitors which may slow or prevent the growth of microorganisms. False negative readings may result when certain organisms are present which do not produce enough CO_2 to be detected by the system or significant growth has occurred before placing the vial into the system. False positivity may occur when the white blood cell count is high. The default 5 day protocol was utilized for all analytical testing with this device and protocols longer than 5 days have not been evaluated.

EXPECTED RESULTS

Performance of the **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F medium in glass vials has been established by a number of published external clinical studies.[9,10] Seeded laboratory studies performed by BD have shown equivalent performance of the **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F medium in plastic vials compared to **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F medium in glass vials.[11]

A total of 342 paired sets at 10 to 100 CFU per vial were evaluated for recovery, with 100% recovering in both the **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F medium contained in a plastic vial and the **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F medium contained in a glass vial. This study included a diverse set of anaerobic and aerobic microorganisms frequently isolated in blood. The median time to detection (TTD) difference between the paired sets was 10 minutes, in favor of the **BD BACTE**C Lytic/10 Anaerobic/F medium contained in a plastic vial. Ninety-five percent of the TTD differences between the paired sets were between -1.68 hours faster for the glass vial and 3 hours faster for the plastic vial.

The following anaerobes were evaluated in the analytical studies: *Bacteroides fragilis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*, *Clostridium histolyticum*, *C. novyi*, *C. perfringens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas asaccharolytica* (formerly *Bacteroides melaninogenicus* subsp. *asaccharolyticus*) and *Veilonella parvula*. The facultative anaerobe *S. pneumoniae* was also tested.

A subset of organisms, including *Finegoldia magna* (formerly *Peptostreptococcus magnus*) and *Peptoniphilus asaccharolyticus* (formerly *Peptostreptococcus asaccharolyticus*) were evaluated on the **BD BACTEC** FX instrument at 10 to 100 CFU per vial and demonstrated 100% recovery in both the **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F medium contained in a plastic vial and the **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F medium contained in a glass vial.

In microbial detection limit testing, a total of 312 paired sets at inoculum levels of 0 to1 and 1 to 10 CFU per vial were evaluated. This study was designed to assess the capability of the **BD BACTEC** blood culture media tested to detect one CFU, when present. Of the 312 paired sets tested, 191 grew and detected in both devices and 44 did not detect in either. Twenty-nine (29) cultures grew and detected only in the **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F medium contained in a glass vial. Forty-eight (48) cultures grew and detected only in **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F medium contained in a plastic vial. One of 12 replicates of *Porphyromonas asaccharolytica* (ATCC 25260, 4 CFU per bottle) failed to detect in the **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F medium contained in a plastic vial. Signal analysis demonstrated no evidence of growth in the replicate and a terminal subculture yielded no growth; indicating that there were likely no viable organisms inoculated into the vial.

AVAILABILITY

Cat. No.	Description
442021	**BD BACTEC™** Lytic/10 Anaerobic/F Culture Vials

REFERENCES

1. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
2. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. *17*:53-80.
3. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
4. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.

5. Lin, H-H, et al. 2012. Evaluation of the blood volume effect on the diagnosis of bacteremia in automated blood culture systems. Doi:10.1016/j.jmii. 2012. 03.2012.
6. Reimer, L.G. et al. 1997. Update on detection of bacteremia and fungemia. Clin. Micro. Rev. *10*:444-465.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2004. Approved Standard M22-A3. Quality control of commercially prepared microbiological culture media, 3rd ed., CLSI, Wayne, Pa.
8. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.L. Landry and M.A. Pfaller (ed.). 2007. Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Hollick, GE, et al. 1996. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease Journal. *24*:191-196.
10. Rohner, P. et. al. 1997. Advantage of combining resin with Lytic BACTEC blood culture media. J. Clin. Micro. *35*:2634-2638.
11. Data available from BD Diagnostics.

Technical Information: In the United States contact BD Technical Service and Support at 800-638-8663 or www.bd.com/ds.

BD BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F Culture Vials

Bouillon digéré de soja-caséine en flacon plastique

Français

APPLICATION

Les flacons de culture **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F (bouillon digéré de soja-caséine préréduit et enrichi, avec CO_2) servent à l'hémoculture anaérobie. Ils sont principalement utilisés avec les appareils **BACTEC** de la série à fluorescence pour la culture et la mise en évidence qualitatives des microorganismes anaérobies du sang.

RESUME ET EXPLICATION

L'échantillon à analyser est ensemencé dans un ou plusieurs flacons qui sont ensuite placés dans un appareil **BACTEC** de la série à fluorescence pour être incubés et lus périodiquement. Chaque flacon contient un détecteur chimique qui détecte toute augmentation en CO_2 résultant de la croissance des microorganismes. L'appareil contrôle ce détecteur toutes les dix minutes en recherchant une augmentation de la fluorescence qui est proportionnelle à la quantité de CO_2 présent. Une lecture positive indique la présence présumée de microorganismes viables dans le flacon. La détection se limite aux microorganismes pouvant se développer dans un type particulier de milieu de culture.

PRINCIPES DE LA METHODE

Si des microorganismes sont présents dans l'échantillon inoculé dans le flacon **BACTEC**, ils métabolisent les substrats contenus dans le flacon et produisent du CO_2. L'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence surveille à la recherche de toute augmentation de la fluorescence du détecteur du flacon due à un accroissement de la quantité de CO_2. L'analyse de l'accroissement, taux et quantité, du CO_2 permet à l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence de déterminer si le flacon est positif, c'est-à-dire si l'échantillon contient des organismes viables.

REACTIFS

Avant traitement, les flacons de culture **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contiennent les réactifs suivants :

Liste des composants

Eau traitée	40 mL
Bouillon digéré de soja-caséine	2,75% poids/vol
Extrait de levure	0,2% poids/vol
Digestion de tissus animaux	0,05% poids/vol
Dextrose	0,2% poids/vol
Hémine	0,0005% poids/vol
Ménadione	0,00005% poids/vol
Citrate de sodium	0,02% poids/vol
Thiols	0,1% poids/vol
Pyruvate de sodium	0,1% poids/vol
Saponine	0,26% poids/vol
Agent anti-moussant	0,01% poids/vol
Polyanétholsulfonate de sodium (PSS)	0,035% poids/vol

Tous les milieux **BACTEC** sont fournis avec CO_2. Les milieux anaérobies sont préréduits et fournis avec CO_2 et N_2. La composition peut avoir été modifiée pour se conformer aux besoins particuliers du laboratoire.

Avertissements et précautions

Pour le diagnostic *in vitro*.

Ce produit contient du caoutchouc naturel sec.

Des microorganismes pathogènes, notamment les virus de l'hépatite et de l'immunodéficience humaine, sont susceptibles d'être présents dans les échantillons cliniques. Respecter les « Précautions standard »[1-4] et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques.

Avant l'emploi, inspecter les flacons et s'assurer qu'ils ne sont pas endommagés, contaminés ou détériorés. Il ne faut pas utiliser les flacons montrant des signes d'endommagement ou de contamination, à savoir turbidité, bouchon protubérant ou enfoncé, milieu décoloré (foncé) ou de fuite.

Les flacons contaminés peuvent être sous pression. Si un flacon contaminé est utilisé pour un prélèvement direct, du milieu contaminé pourrait être refoulé dans la veine du patient. La contamination du flacon peut ne pas être visible. Si une procédure de prélèvement direct est utilisée, surveillez de près la procédure pour éviter tout reflux de matériaux dans le patient.

Il peut aussi arriver occasionnellement qu'un flacon ne soit pas hermétiquement bouché et, par conséquent, le contenu risque de fuir ou de se répandre. Si le flacon a été ensemencé, traiter la fuite ou le liquide répandu avec précaution en raison de la présence éventuelle de microorganismes ou d'agents pathogènes. Stériliser à l'autoclave les flacons ensemencés avant de les jeter.

Flacons contenant une culture positive destinée au repiquage ou à la coloration, etc. : Avant de faire un prélèvement, il est nécessaire de libérer tout gaz accumulé résultant du métabolisme bactérien. Les prélèvements doivent être effectués dans une hotte biologique de sécurité, si possible, et il convient de porter des vêtements de protection appropriés, dont gants et masque. Pour plus d'informations sur le repiquage, voir la rubrique Méthode.

Afin de minimiser les risques de fuite pendant l'ensemencement des échantillons dans les flacons de culture, utiliser des seringues munies d'aiguilles ou d'embouts **Luer-Lok** inamovibles.

Instructions pour la conservation

Les flacons **BACTEC** sont reçus prêt à l'emploi et ne demandent aucune reconstitution ou dilution. Les conserver dans un endroit sec entre 2 et 25 °C, **à l'abri de la lumière directe**.

PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS

Les échantillons doivent être recueillis de façon aseptique afin de réduire les risques de contamination. Des publications d'étude ont montré que le volume d'échantillon recommandé est compris entre 8 et 10 mL.[5,6] Il est conseillé d'ensemencer les flacons **BACTEC** au chevet du malade. Généralement, une seringue de 10 cc ou 20 cc avec un embout **Luer-Lok** est utilisée pour prélever l'échantillon. On peut utiliser un porte-aiguille **Vacutainer** et un système de prélèvement sanguin **Vacutainer**, un système de prélèvement sanguin **Vacutainer Safety-Lok** ou autre système à ailettes, comme il convient. Si on utilise une aiguille et un système de tubes (prélèvement direct), il faut observer soigneusement la direction du flot sanguin au moment où le prélèvement de l'échantillon est démarré. Le vide dans le flacon en général dépasse 10 mL, de sorte que l'utilisateur doive surveiller le volume prélevé au moyen des graduations de 5 mL sur l'étiquette du flacon. Après prélèvement des 8 à 10 mL requis, il faut arrêter l'écoulement en pinçant le tube et en retirant la tubulure du flacon **BACTEC**. Des petits volumes d'échantillons de l'ordre de 3 mL peuvent être utilisés, toutefois la mise en évidence ne sera pas aussi bonne qu'avec les plus grands volumes. **Le flacon BACTEC inoculé doit être envoyé le plus rapidement possible au laboratoire**.

METHODE

Retirer la capsule de protection du flacon **BACTEC** et vérifier l'absence de fissure, de contamination, de turbidité excessive, de bouchon protubérant ou en dépression. **NE PAS UTILISER** le flacon si on note un tel défaut. Avant d'ensemencer, tamponner le bouchon avec de l'alcool (l'utilisation d'iode **n'est** pas recommandée). Injecter aseptiquement ou extraire directement 8 à 10 mL d'échantillon par flacon. Si des volumes d'échantillon de l'ordre de 3 à 4 mL sont utilisés, la mise en évidence ne sera pas aussi importante qu'avec les plus grands volumes (voir Limites de la méthode). **Les flacons anaérobies ensemencés doivent être placés dans l'appareil BACTEC de la série à fluorescence dès que possible** pour être incubés et suivis. Si le placement dans l'appareil d'un flacon ensemencé a été retardé et qu'une croissance est visible, il ne doit pas être testé dans l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence, mais plutôt il doit être repiqué, soumis à une coloration de Gram et traité comme un flacon présumé positif.

Les flacons placés dans l'appareil seront automatiquement testés toutes les 10 minutes pendant toute la durée du protocole de test. Les flacons positifs seront reconnus et identifiés comme tels par l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence (voir le manuel d'utilisation de l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence approprié). Le détecteur à l'intérieur du flacon n'apparaîtra pas visiblement différent dans les flacons positifs et les flacons négatifs, mais l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence sera lui capable de déterminer une différence dans la fluorescence.

Après l'addition du milieu **BACTEC** Lytic/10 Anerobic/F, le sang lysera immédiatement. Initialement, le sang présentera un aspect chocolateux ou très assombri. Si le flacon **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F après la fin de la période d'analyse présente un bouchon protubérant, il doit être repiqué, une coloration de Gram doit être effectuée ou il doit être traité comme un flacon présumé positif.

Les flacons positifs doivent être repiqués et soumis à une coloration de Gram. Dans la grande majorité des cas, les organismes seront visibles et un rapport préliminaire pourra être fait au médecin. Les repiquages sur milieux sélectifs, ainsi qu'un test préliminaire direct de sensibilité aux antibiotiques pourront être préparés directement à partir du liquide dans les flacons **BACTEC**.

Repiquage : Avant d'effectuer un repiquage, poser le flacon debout et placer un coton imbibé d'alcool sur le bouchon. Pour relâcher la pression dans le flacon, insérer une aiguille stérile munie d'un filtre ou d'une compresse adéquats à travers le coton imbibé d'alcool et le bouchon. L'aiguille doit être retirée après le relâchement de la pression et avant de faire un prélèvement pour repiquage. L'insertion et le retrait de l'aiguille doivent être faits avec un mouvement rectiligne, en évitant tout mouvement de torsion.

Pour obtenir un rendement maximal des isolats, les cultures négatives pourront être vérifiées par coloration et/ou repiquage pendant la période d'analyse avant d'être éliminées.

CONTROLE DE QUALITE

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux méthodes de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives CLSI et la réglementation CLIA correspondantes pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

NE PAS UTILISER les flacons de culture au-delà de leur date de péremption.

NE PAS UTILISER de flacon de culture fêlé ou défectueux ; éliminer ces flacons conformément aux procédures en vigueur.

Des certificats de contrôle de qualité se trouvent dans chaque carton de milieux. Les certificats de contrôle de qualité dressent la liste des microorganismes de test, y compris les cultures ATCC spécifiées dans la norme CLSI, *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*.[7]

Le délai de détection en heures était ≤ 72 heures pour chacun des organismes figurant sur le certificat de contrôle de qualité pour ce milieu.

Clostridium perfringens ATCC 13124
Streptococcus pneumoniae ATCC 6305
Clostridium histolyticum ATCC 19401
*Bacteroides fragilis** ATCC 25285
Escherichia coli ATCC 25922
Bacteroides vulgatus ATCC 8482
Staphylococcus aureus ATCC 25923

*Souche du CLSI

Pour une information concernant le Contrôle Qualité pour l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence, se reporter au manuel d'utilisation de l'appareil **BACTEC** de la série à fluorescence approprié.

LIMITES DE LA PROCEDURE

Contamination

Veiller à ne pas contaminer l'échantillon au cours du prélèvement et de l'ensemencement dans le flacon **BACTEC**. Un échantillon contaminé donne une lecture positive, mais n'indique pas un résultat cliniquement positif de façon valide. Cette détermination doit être effectuée par l'utilisateur sur la base de facteurs comme le type de microorganisme récupéré, l'apparition du même microorganisme dans plusieurs cultures, les antécédents du malade, etc.

Mise en évidence d'organismes sensibles au PSS à partir d'échantillons de sang

Compte tenu du fait que le sang peut neutraliser la toxicité du PSS envers les organismes sensibles au PSS (tel que *P. anaerobius*), la présence de volumes maximaux de sang (à savoir, jusqu'à 10 mL) peut aider à l'optimisation de la mise en évidence de ces organismes. Pour augmenter la croissance d'organismes sensibles au PSS quand un volume de sang inférieur à 8 mL est ensemencé, on peut ajouter du sang humain total.

Certains organismes exigeants, tels que les espèces d'*Haemophilus*, requièrent des facteurs de croissance, comme NAD ou le facteur V, qui sont fournis par l'échantillon de sang. Si le volume de l'échantillon de sang est 3,0 mL ou moins, un complément adéquat peut s'avérer nécessaire pour la mise en évidence de ces organismes. Le **BACTEC FOS** Fastidious Organism Supplement (complément pour organisme exigeant) peut être utilisé comme complément nutritif.

Organismes non-viables

Un frottis à coloration de Gram réalisé à partir d'un milieu de culture peut contenir des petits nombres d'organismes non viables provenant des composants du milieu, des réactifs de coloration, de l'huile d'immersion, des lames en verre, et des échantillons utilisés pour l'ensemencement. De plus, l'échantillon du patient peut contenir des organismes qui ne croîtront pas dans le milieu de culture ou dans les milieux de repiquage. De tels échantillons doivent être repiqués sur des milieux spéciaux comme approprié.[8]

Considérations générales

La mise en évidence optimale des isolats peut être accomplie en ajoutant 8 à 10 mL de sang.[5,6] L'utilisation de volumes inférieurs ou supérieurs peut avoir une influence défavorable sur les temps de mise en évidence et/ou de détection. Le sang peut contenir des agents antimicrobiens ou d'autres inhibiteurs qui peuvent ralentir ou empêcher la croissance des microorganismes. Des cultures faussement négatives peuvent être observées en présence de certains microorganismes qui produisent du CO_2 en quantité insuffisante pour être détecté par le système ou si une croissance considérable s'est produite avant l'introduction du flacon dans le système. Des faux positifs peuvent être obtenus quand le nombre de globules blancs sanguins est élevé. Le protocole par défaut de 5 jours a été utilisé pour tous les tests analytiques effectués avec cet appareil et des protocoles de plus de 5 jours n'ont pas été évalués.

RESULTATS ATTENDUS

Les performances du milieu **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenu dans des flacons en verre ont été établies par un certain nombre de publications d'études cliniques externes.[9,10] Des études de laboratoire sur échantillons ensemencés effectuées par BD ont montré que les performances du milieu **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenu dans des flacons en plastique étaient équivalentes à celles du milieu **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenu dans des flacons de verre.[11]

Au total, 342 ensembles appariés entre 10 et 100 UFC par flacon ont été évalués pour connaître le taux de récupération, avec une récupération de 100 % pour le milieu **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenu dans un flacon en plastique et le milieu **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenu dans un flacon en verre. Cette étude incluait un ensemble varié de microorganismes anaérobies et aérobies fréquemment isolés dans le sang. La différence de temps moyen de détection (TDD) entre les ensembles appariés était de 10 minutes, en faveur du milieu **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenu dans un flacon en plastique. Quatre-vingt quinze pourcent des différences de TDD entre les ensembles appariés étaient comprises entre les valeurs suivantes : -1,68 heure plus vite pour le flacon en verre et 3 heures plus vite pour le flacon en plastique.

Les anaérobies suivants ont été évalués dans les études cliniques : *Bacteroides fragilis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*, *Clostridium histolyticum*, *C. novyi*, *C. perfringens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas asaccharolytica* (anciennement *Bacteroides melaninogenicus* subsp. *asaccharolyticus*) et *Veilonella parvula*. L'anaérobie facultatif *S. pneumoniae* a également été testé.

Un sous-ensemble d'organismes, incluant *Finegoldia magna* (anciennement *Peptostreptococcus magnus*) et *Peptoniphilus asaccharolyticus* (anciennement *Peptostreptococcus asaccharolyticus*) ont été évalués sur l'instrument **BD BACTEC** FX entre 10 et 100 UFC par flacon et ont présenté un taux de récupération de 100 % pour le milieu **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenu dans un flacon en plastique et le milieu **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenu dans un flacon en verre.

Lors de l'analyse de la limite de détection microbienne, un total de 312 ensembles appariés présentant des niveaux d'inoculum compris entre 0 et 1 et 1 et 10 UFC par flacon ont été évalués. Cette étude a été conçue pour évaluer la capacité du milieu d'hémoculture **BD BACTEC** testé à détecter une UFC, le cas échéant. Sur les 312 ensembles appariés testés, 191 se sont développés et ont été détectés sur les deux appareils et 44 n'ont été détectés sur aucun appareil. Vingt-neuf (29) cultures se sont développées et ont été détectées uniquement dans le milieu **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenu dans un flacon en verre. Quarante-huit (48) cultures se sont développées et ont été détectées uniquement dans le milieu **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenu dans un flacon en plastique. Un réplicat de *Porphyromonas asaccharolytica* (ATCC 25260, 4 UFC par flacon) sur 12 n'a pas été détecté dans le milieu **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenu dans un flacon en plastique. L'analyse des signaux n'a révélé aucun signe de croissance dans le réplicat et un repiquage final n'a produit aucune croissance, ce qui signifie qu'il n'y avait probablement aucun organisme viable inoculé dans le flacon.

CONDITIONNEMENT

N° réf.	Description
442021	**BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F Culture Vials (flacons de culture)

REFERENCES : voir la rubrique “References” du texte anglais

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD.

BD BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F Culture Vials

Casein-Soja-Pepton-Bouillon in Plastikfläschchen

Deutsch

VERWENDUNGSZWECK

BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F Culture Vials (Kulturfläschchen – vorreduzierte angereicherte Casein-Soja-Pepton-Bouillon mit CO_2) sind für anaerobe Blutkulturen vorgesehen. Die Fläschchen werden vornehmlich zusammen mit den **BACTEC**-Geräten der Fluoreszenz-Serie zur qualitativen Kultivierung und Isolierung anaerober Mikroorganismen aus Blut verwendet.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Ein oder mehrere Fläschchen, die zur Inkubation und regelmäßigen Messung in das **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie gestellt werden, werden mit der zu testenden Probe inokuliert. Jedes Fläschchen ist mit einem chemischen Sensor ausgestattet, mit dem gemessen werden kann, wenn der CO_2-Gehalt durch das Wachstum von Mikroorganismen ansteigt. Das Gerät überprüft alle zehn Minuten, ob der Sensor einen Fluoreszenzanstieg anzeigt, der proportional zum aktuellen CO_2-Gehalt ist. Ein positiver Befund zeigt die präsumtive Anwesenheit von lebensfähigen Mikroorganismen im Fläschchen an. Der Nachweis ist auf die in einer bestimmten Medienart zum Wachstum fähigen Mikroorganismen beschränkt.

VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Falls die in das **BACTEC**-Fläschchen inokulierte Probe Mikroorganismen enthält, wird beim Abbau der in dem Fläschchen enthaltenen Substrate durch die Organismen CO_2 erzeugt. Das **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie überwacht den durch den höheren CO_2-Gehalt verursachten Fluoreszenzanstieg des Sensors im Fläschchen. Durch die Analyse der CO_2-Anstiegsrate und der Zunahme des CO_2-Gehalts kann das **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie feststellen, ob die Probe lebensfähige Mikroorganismen enthält und der Befund für das Fläschchen somit positiv ist.

REAGENZIEN

Die **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F-Kulturfläschchen enthalten vor der Verarbeitung die folgenden aktiven Bestandteile:

Liste der Bestandteile

Demineralisiertes Wasser	40 mL
Casein-Soja-Pepton-Bouillon	2,75% (Gew./Vol. %)
Hefeextrakt	0,2% (Gew./Vol. %)
Abgebautes Tiergewebe	0,05% (Gew./Vol. %)
Dextrose	0,2% (Gew./Vol. %)
Hämin	0,0005% (Gew./Vol. %)
Menadion	0,00005% (Gew./Vol. %)
Natriumcitrat	0,02% (Gew./Vol. %)
Thiole	0,1% (Gew./Vol. %)
Natriumpyruvat	0,1% (Gew./Vol. %)
Saponin	0,26% (Gew./Vol. %)
Anti-Schaummittel	0,01% (Gew./Vol. %)
Natriumpolyanetholsulfonat (NPS)	0,035% (Gew./Vol. %)

Alle **BACTEC**-Medien werden mit CO_2-Zusatz abgefüllt. Anaerobe Medien werden vorreduziert und mit CO_2- und N_2-Zusatz abgefüllt. Die Zusammensetzung kann gemäß speziellen Leistungsanforderungen abgeändert worden sein.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum.

Dieses Produkt enthält Naturkautschuk (getrocknet).

Klinische Proben können pathogene Mikroorganismen, wie z. B. Hepatitis-Viren und HIV, enthalten. Beim Umgang mit allen mit Blut oder anderen Körperflüssigkeiten kontaminierten Gegenständen sind die „Allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen“[1-4] sowie die internen Institutsrichtlinien zu beachten.

Vor Gebrauch muss jedes Fläschchen auf Anzeichen von Beschädigung, Kontamination oder Verfall überprüft werden. Fläschchen mit Anzeichen auf Beschädigung oder Kontamination, wie z.B. Risse, Trübung oder Verfärbung des Mediums, Wölbung oder ein eingedrücktes Septum, dürfen nicht verwendet werden.

Kontaminierte Fläschchen können einen Überdruck erzeugen. Wird zur direkten Blutentnahme am Patienen ein kontaminiertes Fläschchen verwendet, kann kontaminiertes Kulturmedium in die Vene des Patienten zurückfließen. Die Kontamination eines Fläschchens ist nicht in allen Fällen sichtbar. Deshalb bei der Durchführung der Blutentnahme aus der peripheren Vene den Vorgang sorgfältig überwachen, um den Rückfluß von Flüssigkeit in die Vene des Patienen zu vermeiden.

In seltenen Fällen kann es vorkommen, dass ein Fläschchen undicht ist. In diesem Fall ist es möglich, dass der Inhalt ausläuft. Falls das betreffende Fläschchen bereits inokuliert war, muss das ausgelaufene Material mit äußerster Vorsicht behandelt werden, da es Bakterien oder Viren enthalten kann. Vor ihrer Entsorgung müssen alle inokulierten Fläschchen autoklaviert werden.

Positive Kulturfläschchen zur Subkultivierung, Färbung etc.: Vor der Probenentnahme muss evtl. vorhandenes Gas aus der Blutkultur abgelassen werden, das sich häufig als Folge mikrobiellen Stoffwechsels ansammelt. Die Probenentnahme sollte möglichst in einer biologischen Sicherheitswerkbank durchgeführt werden. Schutzkleidung, einschließlich Handschuhe und Mundschutz, sollte getragen werden. Nähere Einzelheiten zur Subkultivierung sind dem Abschnitt „Verfahren“ zu entnehmen.

Um ein Auslaufen bei der Inokulation von Proben in die Kulturfläschchen so weit wie möglich auszuschließen, sollten Spritzen mit fest eingesetzten Kanülen oder mit **Luer-Lok**-Kegel verwendet werden.

Aufbewahrung

Die **BACTEC**-Fläschchen werden gebrauchsfertig geliefert und erfordern keine Rekonstituierung oder Verdünnung. Sie müssen trocken bei 2 – 25 °C und **vor direkter Lichteinstrahlung** geschützt gelagert werden.

PROBENENTNAHME

Die Proben müssen unter Anwendung steriler Verfahren entnommen werden, um das Risiko von Kontamination zu verringern. Durch veröffentlichte Studien wurde nachgewiesen, dass die empfohlene Probenmenge 8 – 10 mL beträgt.[5,6] Es wird empfohlen, das Blut mittels Venenpunktion in die **BACTEC**-Fläschchen zu inokulieren. Zur Blutentnahme wird üblicherweise eine 10-cc- oder 20-cc-Kanüle mit **Luer-Lok**-Kegel verwendet. Gegebenenfalls kann ein **Vacutainer**-Nadelhalter und ein **Vacutainer**-Blutentnahme-Set, ein **Vacutainer Safety-Lok**-Blutentnahme-Set oder ein anderes Blutentnahmeset verwendet werden. Beobachten Sie bei Verwendung einer Kanüle und eines Schlauchsets (direkte Blutentnahme) genau die Richtung des Blutflusses, wenn Sie mit der Blutentnahme beginnen. Das Vakuum im Fläschchen beträgt i. d. R. über 10 mL. Daher sollte der Anwender die entnommene Probenmenge anhand der 5-mL-Einteilung auf dem Etikett des Fläschchens überprüfen. Nach Erreichen der erforderlichen 8 – 10 mL Blut den Schlauch abknicken und das Entnahmeset vom **BACTEC**-Fläschchen entfernen. Ein Probenvolumen von nur 3 mL kann zwar verwendet werden, ein größeres Blutvolumen erhöht aber die Wiederfindungsrate. **Das inokulierte BACTEC-Fläschchen sollte so schnell wie möglich zum Labor geschickt werden**.

VERFAHREN

Den Abrissdeckel auf dem **BACTEC**-Fläschchen entfernen und das Fläschchen auf Risse, Kontamination, starke Trübung und Wölbung oder Einbeulung des Septums überprüfen. Defekte Fläschchen **NICHT VERWENDEN**. Vor dem Inokulieren das Septum mit Alkohol desinfizieren (die Verwendung von Jod wird **nicht** empfohlen). Pro Fläschchen 8 – 10 mL Blut aseptisch injizieren oder vorzugsweise direkt aus einer peripheren Vene in das Blutkulturfläschchen inokulieren. Probenvolumina zwischen 3 und 4 mL eignen sich nicht so gut zur Isolierung von Mikroorganismen wie größere Volumina (siehe „Verfahrensbeschränkungen"). **Inokulierte anaerobe Blutkulturen sollten so schnell wie möglich** zur Inkubation und Überwachung **in die BACTEC-Geräte der Fluoreszenz-Serie gestellt werden**. Wenn ein inokuliertes Fläschchen nicht rechtzeitig in das Gerät gestellt wurde und Wachstum erkennbar ist, sollte es nicht im **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie getestet werden. Stattdessen sollte eine Subkultur und ein Grampräparat angelegt, und die Probe als präsumtiv positive Blutkultur behandelt werden.

Sobald Blutkulturen in das Gerät gestellt werden, werden sie während der Bebrütungsdauer automatisch alle 10 Minuten gemessen. Positive Fläschchen werden vom **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie ermittelt und als positiv identifiziert (siehe Benutzerhandbuch des entsprechenden **BACTEC**-Geräts der Fluoreszenz-Serie). Bei positiven und negativen Fläschchen ist am Sensor kein sichtbarer Unterschied zu erkennen. Das **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie kann jedoch einen Unterschied bei der Fluoreszenz feststellen.

Blut lysiert sofort nach der Hinzugabe zum **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F Medium. Das Blut erscheint anfänglich bräunlich oder sehr dunkel. Falls am Ende der Testdauer beobachtet wird, daß ein **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F Fläschchen eine Wölbung des Septums aufweist, sollte eine Subkultur angelegt, ein Grampräparat angefertigt und das Fläschchen als vermutlich positiv behandelt werden.

Für positive Fläschchen sollte eine Subkultur angelegt und ein Grampräparat angefertigt werden. In den meisten Fällen sind Organismen im Grampräparat erkennbar, so dass dem Arzt ein vorläufiger Befund vorgelegt werden kann. Aus dem positiven **BACTEC**-Fläschchen können Subkulturen auf Selektivmedien angelegt und vorläufige, direkte antimikrobielle Empfindlichkeitstests vorgenommen werden.

Subkultivierung: Für die Subkultivierung das Fläschchen aufrecht stellen und das Septum mit einem Alkoholtupfer desinfizieren. Zur Entlüftung Alkoholtupfer und Septum mit einer sterilen Kanüle mit passendem Filter durchstechen. Nach Entweichen des Überdrucks und vor der Probenentnahme für Subkulturen sollte die Entlüftungskanüle entfernt werden. Das Einstechen und Zurückziehen der Kanüle sollte mit einer geradlinigen Bewegung ohne Drehungen ausgeführt werden.

Um eine maximale Ausbeute an Isolaten zu erzielen, können negative Kulturen vor dem Verwerfen mittels Färbung untersucht und/oder Subkulturen angelegt werden.

QUALITÄTSKONTROLLE

Die Qualitätskontrollen müssen unter Einhaltung der örtlich, landesweit und/oder bundesweit geltenden Bestimmungen oder Auflagen der Akkreditierungsorganisationen sowie der Standard-Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors erfolgen. Anwendern wird geraten, die relevanten CLSI-Richtlinien und CLIA-Vorschriften über geeignete Maßnahmen zur Qualitätskontrolle einzusehen.

Die Kulturfläschchen dürfen **NICHT** nach dem Verfallsdatum **VERWENDET** werden.

Fläschchen, die Risse oder andere Beschädigungen aufweisen, dürfen **NICHT VERWENDET** werden; Fläschchen ordnungsgemäß entsorgen.

Qualitätskontrollzertifikate sind jedem Karton mit Medien beigefügt. In den Qualitätskontrollzertifikaten sind Testorganismen, einschließlich im CLSI-Standard, *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*, spezifizierte ATCC-Kulturen, aufgeführt.[7]

Die Detektionszeit (in Stunden) für jeden im Qualitätskontrollzertifikat für dieses Medium aufgeführten Organismus lag bei ≤ 72 Stunden.

Clostridium perfringens ATCC 13124
*Bacteroides fragilis** ATCC 25285
Bacteroides vulgatus ATCC 8482
Streptococcus pneumoniae ATCC 6305
Escherichia coli ATCC 25922
Staphylococcus aureus ATCC 25923
Clostridium histolyticum ATCC 19401

*CLSI-Stamm

Informationen bezüglich der Qualitätskontrolle für Ihr **BACTEC**-Gerät der Fluoreszenz-Serie finden Sie im Benutzerhandbuch des betreffenden **BACTEC**-Geräts.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Kontamination

Eine Kontamination der Probe während der Blutentnahme oder der Inokulation in das **BACTEC**-Fläschchen muss vermieden werden. Eine kontaminierte Probe ergibt ein positives Ergebnis ohne klinische Relevanz. Eine entsprechende Beurteilung muss vom Anwender auf der Basis von Faktoren, wie z. B. der Art des isolierten Organismus, dem Vorkommen desselben Organismus in mehreren Kulturen, der Anamnese des Patienten usw., vorgenommen werden.

Isolierung NPS-empfindlicher Organismen aus Blutproben

Weil Blut die Toxizität von NPS gegenüber NPS-empfindlichen Organismen (wie *P. anaerobius*) neutralisieren kann, können maximale Blutmengen (bis zu 10 mL) dazu beitragen, die Isolierung dieser Organismen zu optimieren. Wenn weniger als 8 mL Blut inokuliert worden sind, kann zur Wachstumsverbesserung NPS-empfindlicher Organismen Human-Vollblut zugegeben werden.

Einige anspruchsvolle Organismen (darunter bestimmte *Haemophilus*-Spezies) benötigen Wachstumsfaktoren wie NAD und/oder Hämin, die im Blut enthalten sind. Bei einer Blutprobenmenge von 3,0 mL oder weniger muss die Probe zur Isolierung dieser Organismen ggf. entsprechend angereichert werden. Zur Anreicherung der Wachstumsmedien eignet sich **BACTEC FOS** (Fastidious Organism Supplement) für anspruchsvolle Organismen.

Nicht lebensfähige Organismen

Ein Grampräparat von einem Kulturmedium kann eine geringe Anzahl nicht lebensfähiger Organismen aus Medienbestandteilen, Färbereagenzien, Immersionsöl, Glasobjektträgern und den zur Inokulation verwendeten Proben enthalten. Darüber hinaus kann die Patientenprobe Organismen enthalten, die in dem Kulturmedium bzw. in dem für die Subkultivierung verwendeten Medium nicht wachstumsfähig sind. Subkulturen aus solchen Proben sollten unter Verwendung geeigneter Spezialmedien angelegt werden.[8]

Allgemeine Erwägungen

Eine optimale Ausbeute an Isolaten wird durch die Zugabe von 8 – 10 mL Blut erzielt.[5,6] Die Verwendung größerer oder kleinerer Volumina kann die Isolierung bzw. die Nachweiszeiten nachteilig beeinflussen. Blut kann antimikrobielle Substanzen oder andere Inhibitoren enthalten, die das Wachstum von Mikroorganismen verlangsamen oder verhindern können. Wenn bestimmte Organismen vorhanden sind, die nicht genug CO_2 produzieren, um vom Gerät festgestellt zu werden oder wenn das Fläschchen sichtbares Wachstum aufweist, bevor es in das Gerät gestellt wird, können sich falsch-negative Werte ergeben. Falsch-positive Resultate können durch eine hohe Anzahl Leukozyten im Blut verursacht werden. Das standardmäßige 5-Tage-Protokoll wurde für alle analytischen Tests mit diesem Gerät angewendet, und Protokolle mit mehr als 5 Tagen Dauer wurden nicht bewertet.

ZU ERWARTENDE ERGEBNISSE

Die Leistungsfähigkeit des **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F-Mediums in Glasfläschchen wurde in einer Reihe veröffentlichter externer klinischer Studien ermittelt.[9,10] Laborstudien von BD mit beimpften Proben haben ergeben, dass das **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F-Medium in Kunststoffflăschchen genauso leistungsstark ist wie in Glasfläschchen.[11]

Es wurden insgesamt 342 Probenpaare mit 10 bis 100 KBE pro Fläschchen hinsichtlich der Isolierung ausgewertet, wobei 100 % Isolierung sowohl mit **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F-Medium in Kunststoffflăschchen als auch mit **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F-Medium in Glasfläschchen erzielt wurden. Diese Studie umfasste einen breit gefächerten Satz von anaeroben und aeroben Mikroorganismen, die oft aus Blut isoliert werden. Die mittlere Abweichung der Nachweiszeit zwischen den Probenpaaren lag bei 10 Minuten, zugunsten des **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F-Mediums im Kunststoffflăschchen. 95 % der Nachweiszeitabweichungen zwischen den Probenpaaren waren zwischen -1,68 Stunden schneller für das Glasfläschchen und 3 Stunden schneller für das Kunststoffflăschchen.

Folgende anaerobe Organismen wurden in den analytischen Studien ausgewertet: *Bacteroides fragilis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*, *Clostridium histolyticum*, *C. novyi*, *C. perfringens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas asaccharolytica* (früher *Bacteroides melaninogenicus* subsp. *asaccharolyticus*) und *Veilonella parvula*. Der fakultative Anaerobier *S. pneumoniae* wurde ebenfalls getestet.

Eine Untergruppe von Organismen, einschließlich *Finegoldia magna* (früher *Peptostreptococcus magnus*) und *Peptoniphilus asaccharolyticus* (früher *Peptostreptococcus asaccharolyticus*) wurde auf dem **BD BACTEC** FX-Gerät bei 10 bis 100 KBE pro Fläschchen getestet und zeigte eine Isolierung von 100 % im **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F-Medium, sowohl mit Kunststoff- als auch mit Glasfläschchen.

Zum Testen der mikrobiellen Nachweisgrenze wurden insgesamt 312 Probenpaare bei Inokulumspiegeln von 0 bis1 und 1 bis 10 KBE pro Fläschchen ausgewertet. Die Studie zielte darauf, die Fähigkeit des getesteten **BD BACTEC**-Blutkulturmediums zum Nachweis einer KBE zu bewerten, sofern vorhanden. Von den 312 getesteten Probenpaaren wurde in 191 mit beiden Fläschchen Wachstum nachgewiesen, in 44 mit keinem Fläschchen. 29 Kulturen wuchsen und wurden nur mit **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F-Medium in einem Glasfläschchen nachgewiesen. 48 Kulturen wuchsen und wurden nur mit **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F-Medium in einem Kunststoffflăschchen nachgewiesen. Eines der 12 Replikate von *Porphyromonas asaccharolytica* (ATCC 25260, 4 KBE je Fläschchen) wurde nicht mit dem **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F-Medium in einem Kunststoffflăschchen nachgewiesen. Eine Signalanalyse zeigte keinen Nachweis für Wachstum im Replikat und eine abschließende Subkultur ergab ebenfalls kein Wachstum. Dies weist darauf hin, dass wahrscheinlich keine lebensfähigen Organismen in das Fläschchen inokuliert wurden.

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.- Nr.	Beschreibung
442021	**BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F Culture Vials

LITERATUR: S. “References” im englischen Text

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung.

BD BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F Culture Vials
Brodo digerito di soia-caseina in flacone di plastica

Italiano

USO PREVISTO

I flaconi di coltura **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F (brodo digerito di soia-caseina arricchito pre-ridotto, con CO_2) sono destinati ad emocolture anaerobie. L'applicazione principale è in strumenti **BACTEC** della serie fluorescente per coltura qualitativa e recupero di microrganismi anaerobi da campioni ematici.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Il campione da testare è inoculato in uno o più flaconi, che vengono inseriti nello strumento **BACTEC** della serie fluorescente per l'incubazione e la lettura periodica. Ogni flacone contiene un sensore chimico in grado di rilevare aumenti nella CO_2 prodotta dalla crescita dei microrganismi. Ogni dieci minuti, lo strumento monitora il sensore al fine di rilevare ogni aumento di fluorescenza, che è proporzionale alla quantità di CO_2 presente. Una lettura positiva indica la presenza presuntiva di microrganismi vitali nel flacone. La rilevazione si limita ai microrganismi che crescono in un particolare tipo di terreno.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Se nel campione inoculato nel flacone **BACTEC** sono presenti microrganismi, questi metabolizzano i substrati presenti nel flacone, producendo così CO_2. Gli aumenti nella fluorescenza del sensore del flacone, causati dalla maggiore quantità di CO_2, vengono monitorati dallo strumento **BACTEC** della serie fluorescente. L'analisi delle velocità e dell'entità dell'aumento di CO_2 consente allo strumento **BACTEC** della serie fluorescente di determinare se il flacone è positivo, ossia che il campione contiene microrganismi vitali.

REAGENTI

Prima del trattamento, i flaconi di coltura **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contengono i seguenti ingredienti attivi:

Elenco degli ingredienti

Acqua purificata.....40 mL
Brodo digerito di soia-caseina .....2,75% peso/vol
Estratto di lievito .....0,2% peso/vol
Digerito di tessuto animale .....0,05% peso/vol
Destrosio .....0,2% peso/vol
Emina .....0,0005% peso/vol
Menadione.....0,00005% peso/vol
Citrato di sodio.....0,02% peso/vol
Tioli .....0,1% peso/vol
Piruvato di sodio.....0,1% peso/vol
Saponina .....0,26% peso/vol
Agente antischiumogeno.....0,01% peso/vol
Sodio polianetolsulfonato (SPS).....0,035% peso/vol

Tutti i terreni di coltura **BACTEC** sono dispensati con CO_2 addizionata. I terreni anaerobi sono preridotti e dispensati con l'aggiunta di CO_2 e N_2. La composizione può essere stata modificata per soddisfare i requisiti di rendimento desiderati.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitr*o.

Questo prodotto contiene gomma naturale secca.

I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle norme dell'istituto e alle "Precauzioni standard".[1-4]

Prima dell'uso, esaminare ciascun flacone per verificare l'eventuale presenza di danni, contaminazione o deterioramento. Non usare i flaconi che presentano segni di danneggiamento o contaminazione, come perdita, torbidità, alterazione di colore (colore più scuro), o rigonfiamento o schiacciamento del setto.

Un flacone contaminato può avere pressione positiva. Se si utilizza un flacone contaminato per il prelievo diretto, il terreno di coltura contaminato potrebbe rifluire nella vena del paziente. La contaminazione del flacone può non essere immediatamente visibile. Durante la procedura di prelievo diretto, controllare il processo con estrema attenzione allo scopo di evitare il riflusso dei materiali nel paziente.

In rare occasioni, è possibile che un flacone sia stato sigillato in modo insufficiente, causando possibili perdite o fuoriuscite del contenuto. Se il flacone è stato inoculato, trattare la perdita o la fuoriuscita con cautela data la potenziale presenza di agenti/microrganismi patogeni. Prima di gettare i flaconi inoculati, sterilizzarli tutti mediante autoclavaggio.

Flaconi positivi usati per subcoltura o colorazione, ecc.: prima di effettuare il campionamento, è necessario dar sfogo al gas accumulato a seguito del metabolismo microbico. Se possibile, eseguire il campionamento in camera biologica di sicurezza, indossando indumenti protettivi appropriati, inclusi maschere e guanti. Per ulteriori informazioni sulla procedura di subcoltura, vedere la sezione Procedura.

Per ridurre al minimo potenziali fuoriuscite durante l'inoculo dei campioni nei flaconi di coltura, usare siringhe con aghi fissi o puntali con raccordo **Luer-Lok**.

Istruzioni per la conservazione

Al ricevimento, i flaconi **BACTEC** sono pronti per l'uso e non richiedono alcuna ricostituzione o diluizione. Conservare a 2 – 25 °C in luogo asciutto, **al riparo da luce diretta**.

RACCOLTA DEI CAMPIONI

Prelevare il campione adottando tecniche sterili al fine di ridurre le possibilità di contaminazione. Studi pubblicati hanno dimostrato che il volume di campione consigliato è 8 – 10 mL.[5,6] Si raccomanda di inoculare i campioni nei flaconi **BACTEC** direttamente al letto del paziente. Normalmente, per prelevare il campione viene usata una siringa da 10 cc o 20 cc con puntale **Luer-Lok**. Se opportuno, possono essere usati un porta-aghi **Vacutainer** e un set per prelievo di sangue **Vacutainer**, un set per prelievo di sangue **Vacutainer Safety-Lok** o altro set di ago e cannula a "farfalla". In caso di utilizzo di un set ago-cannula (prelievo diretto), osservare attentamente la direzione del flusso ematico allorché si inizia la raccolta del campione. Il vuoto nella fiala supera di norma 10 mL; si deve pertanto controllare il volume raccolto osservando le tacche di 5 mL sull'etichetta del flacone. Una volta prelevati gli 8 – 10 mL di campione necessari per il test, occorre arrestare il flusso attorcigliando il tubo e togliendo il set del tubo dal flacone **BACTEC**. È possibile usare campioni minimi di 3 mL, per quanto volumi maggiori permettono un migliore isolamento. **I flaconi BACTEC inoculati devono essere inviati al laboratorio non appena possibile.**

PROCEDURA

Togliere il cappuccio dal flacone **BACTEC** e assicurarsi che il flacone non sia incrinato, contaminato o torbido e che il tappo non sia rigonfio o incavato. **NON USARE** il flacone in presenza di un eventuale difetto. Prima di inoculare, disinfettare il setto con alcol (**non** si raccomanda l'uso di iodio). Iniettare asetticamente o prelevare direttamente 8 – 10 mL di campione per flacone. In caso di impiego di campioni aventi volumi di 3 – 4 mL, il recupero non sarà così consistente come nel caso di volumi più elevati (vedere Limitazioni della procedura). **Non appena possibile, collocare i flaconi anaerobi inoculati nello strumento BACTEC della serie fluorescente** per l'incubazione e il monitoraggio. Se un flacone inoculato è collocato nello strumento in ritardo e presenta crescita già visibile, non deve essere testato nello strumento **BACTEC** della serie fluorescente, ma posto in subcultura, sottoposto a colorazione di Gram e trattato come un flacone presuntivamente positivo.

I flaconi collocati nello strumento vengono automaticamente testati ogni dieci minuti per la durata del periodo del protocollo di test. I flaconi positivi vengono riconosciuti e identificati come tali dallo strumento **BACTEC** della serie fluorescente (vedere il manuale d'uso dello strumento **BACTEC** della serie fluorescente appropriato). Il sensore all'interno del flacone non appare visibilmente diverso nei flaconi positivi e negativi; tuttavia lo strumento **BACTEC** della serie fluorescente è in grado di determinare ogni differenza di fluorescenza.

Non appena aggiunto al terreno di coltura **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F, il sangue viene lisato. All'inizio, il sangue apparirà cioccolato o molto scuro. Se alla fine del periodo di test si nota che un flacone **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F presenta rigonfiamento al diaframma, si deve eseguire una subcoltura, una colorazione di Gram o considerarlo come presuntivamente positivo.

I flaconi positivi vanno subcolturati e sottoposti a colorazione di Gram su vetrino. Nella stragrande maggioranza dei casi, vengono osservati microrganismi ed è possibile stilare un referto preliminare per il medico. Subcolture su terreno selettivo e un test preliminare diretto di sensibilità agli antibiotici possono essere effettuati a partire dal liquido prelevato dai flaconi **BACTEC**.

Subcoltura: prima della subcoltura, porre il flacone in posizione verticale e collocare un tampone imbevuto d'alcol sul setto. Per ridurre la pressione all'interno del flacone, inserire un ago sterile munito di filtro appropriato o di compressa attraverso il tampone e il setto. Una volta scaricata la pressione e prima della raccolta del campione per la subcultura, rimuovere l'ago. Inserire e retrarre l'ago con un movimento lineare, evitando torsioni.

Per ottenere la massima quantità di isolati, le colture negative possono essere controllate tramite colorazione e/o subcolturate prima di venir eliminate.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Consultare le linee guida CLSI e le norme CLIA in materia, per una corretta esecuzione delle procedure relative al controllo di qualità.

NON USARE i flaconi di coltura oltre la rispettiva data di scadenza.

NON USARE flaconi di coltura che presentano incrinature o difetti; eliminare il flacone in modo appropriato.

Certificati di controllo qualità sono forniti con ciascuna confezione di terreni. I certificati di controllo qualità riportano i microrganismi di controllo, incluse le colture ATCC specificate nella norma CLSI *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*.[7]

L'intervallo di tempo per la rilevazione in ore è stato ≤ 72 ore per ciascuno dei microrganismi elencati nel Certificato di controllo di qualità per questo terreno:

Clostridium perfringens ATCC 13124
Streptococcus pneumoniae ATCC 6305
Clostridium histolyticum ATCC 19401
*Bacteroides fragilis** ATCC 25285
Escherichia coli ATCC 25922
Bacteroides vulgatus ATCC 8482
Staphylococcus aureus ATCC 25923

*Ceppo CLSI

Per informazioni sul controllo di qualità per lo strumento **BACTEC** della serie fluorescente, consultare il manuale d'uso dello strumento **BACTEC** della serie fluorescente appropriato.

LIMITI DELLA PROCEDURA

Contaminazione

Prestare attenzione a non contaminare il campione durante il prelievo e l'inoculo nel flacone **BACTEC**. Un campione contaminato produce una lettura positiva, senza però fornire un risultato clinico significativo. Tale determinazione deve essere effettuata dall'utente sulla base di fattori quali il tipo di microrganismo recuperato, la presenza dello stesso microrganismo in più colture, l'anamnesi del paziente, ecc.

Isolamento di organismi sensibili all'SPS da campioni ematici

Poiché il sangue può neutralizzare la tossicità dell'SPS verso organismi a esso sensibili (come ad esempio il *P. anaerobius*), la presenza di volumi di sangue massimi (ossia fino a 10 mL) può aiutare a ottimizzare il recupero di tali organismi. Per favorire la crescita di organismi sensibili all'SPS, si può aggiungere ulteriore sangue umano intero quando si inoculano meno di 8 mL.

Alcuni microrganismi esigenti, come determinate specie di *Haemophilus*, richiedono fattori di crescita quali NAD o il fattore V, forniti dal campione ematico. Se il volume del campione è pari o inferiore a 3,0 mL, è possibile che per il recupero di questi microrganismi sia necessario un supplemento appropriato. È possibile usare **BACTEC FOS** Fastidious Organism Supplement, come supplemento nutritivo.

Microrganismi non vitali

Gli strisci al Gram tratti da un terreno di coltura possono talvolta contenere piccole quantità di microrganismi non vitali derivanti dai componenti del terreno, reagenti di colorazione, olio di immersione, vetrini e gli stessi campioni usati per l'inoculo. Il campione clinico può inoltre contenere microrganismi che non crescono nel terreno di coltura o nel terreno usato per la subcultura. Tali campioni devono essere subcolturati in terreni speciali, come appropriato.[8]

Considerazioni di carattere generale

Per un recupero ottimale di isolati si devono aggiungere 8 – 10 mL di sangue.[5,6] L'uso di volumi inferiori o superiori può influenzare negativamente il recupero e/o i tempi di rilevazione. Il sangue può contenere antimicrobici o altri inibitori che possono rallentare o prevenire la crescita dei microrganismi. Si possono ottenere risultati falsi negativi in presenza di certi organismi che non producono CO_2 in quantità sufficiente alla rivelazione da parte del sistema o quando si sia prodotta una crescita notevole prima dell'introduzione del flacone nel sistema. In caso di conta leucocitaria elevata, si può avere falsa positività. Per tutti i test analitici eseguiti con il presente dispositivo è stato utilizzato il protocollo predefinito di 5 giorni; protocolli di durata superiore a 5 giorni non sono stati valutati.

RISULTATI ATTESI

Le prestazioni dei flaconi di terreno **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F in vetro sono state convalidate da diversi studi clinici esterni pubblicati.[9,10] Studi di semina condotti in laboratorio da BD hanno dimostrato per i flaconi di terreno **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F in plastica prestazioni equivalenti ai flaconi di terreno **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F in vetro.[11]

Complessivamente sono state testate per il recupero 342 coppie di set contenenti da 10 a 100 UFC per flacone, con un recupero del 100% sia nel terreno **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenuto in un flacone di plastica sia nel terreno **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenuto in un flacone di vetro. Lo studio comprendeva un set diverso di microrganismi aerobici e anaerobici isolati di frequente nel sangue. È stata registrata una differenza nel tempo di rilevazione (TDR) medio tra le coppie di set di 10 minuti a favore del terreno **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenuto in un flacone di plastica. Il novantacinque per cento delle differenze nel TDR tra le coppie di set si attestava in un intervallo di maggiore rapidità compreso tra -1,68 ore per il flacone in vetro e 3 ore per quello in plastica.

Negli studi analitici sono stati valutati i seguenti anaerobi: *Bacteroides fragilis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*, *Clostridium histolyticum*, *C. novyi*, *C. perfringens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas asaccharolytica* (già *Bacteroides melaninogenicus* ssp. *asaccharolyticus*) e *Veilonella parvula*. È stato testato anche l'anaerobio facoltativo *S. pneumoniae*.

Un sottogruppo di organismi, tra cui *Finegoldia magna* (già *Peptostreptococcus magnus*) e *Peptoniphilus asaccharolyticus* (già *Peptostreptococcus asaccharolyticus*), è stato valutato sullo strumento **BD BACTEC** FX a 10 – 100 UFC per flacone con un recupero del 100% sia nel terreno **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenuto in un flacone di plastica sia nel terreno **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenuto in un flacone di vetro.

Nei test per la determinazione della carica microbica, complessivamente sono state valutate 312 coppie di set a concentrazioni di inoculo da 0 a 1 e da 1 a 10 UFC per flacone. Lo studio è stato condotto al fine di valutare la capacità dei terreni di emocoltura **BD BACTEC** testati di rilevare una sola UFC, quando presente. Delle 312 coppie di set testate, 191 si sono sviluppate e sono state rilevate in entrambi i dispositivi e 44 non sono state rilevate.

Ventinove (29) colture si sono sviluppate e sono state rilevate soltanto nel terreno **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenuto in un flacone di vetro. Quarantotto (48) colture si sono sviluppate e sono state rilevate soltanto nel terreno **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenuto in un flacone di plastica. Nel terreno **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenuto in un flacone di plastica non è stato possibile rilevare uno dei 12 replicati di *Porphyromonas asaccharolytica* (ATCC 25260, 4 UFC per flacone). L'analisi dei segnali non ha dimostrato alcuna traccia di sviluppo nel replicato e una subcoltura terminale non ha evidenziato alcuna crescita, a indicare che probabilmente non vi erano organismi vivi tra quelli inoculati nel flacone.

DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
442021	**BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F Culture Vials

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD.

BD BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F Culture Vials

Caldo digerido de soja-caseína en frasco de plástico

Español

USO PREVISTO

BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F culture vials (frascos de cultivo con caldo de digerido de soja-caseína enriquecido y prerreducido, con CO_2) están indicados para hemocultivos anaerobios. Se utilizan principalmente con los instrumentos **BACTEC** de la serie fluorescente para el cultivo cualitativo y la recuperación de microorganismos anaerobios en la sangre.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La muestra que se va a analizar se inocula en uno o más frascos que se introducen en el instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente para su incubación y lectura periódica. Cada frasco contiene un sensor químico que puede detectar incrementos de CO_2 producidos por el crecimiento de microorganismos. El instrumento controla el sensor cada 10 minutos para detectar un aumento de la fluorescencia que es proporcional a la cantidad de CO_2 presente. Una lectura positiva indica la presencia de presuntos microorganismos viables dentro del frasco. La detección se limita a los microorganismos capaces de crecer en un tipo de medio determinado.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Si existen microorganismos en la muestra inoculada en el frasco **BACTEC**, se producirá CO_2 cuando los microorganismos metabolizan los sustratos presentes en el vial. Los aumentos de fluorescencia del sensor del vial ocasionados por la mayor cantidad de CO_2 se monitorizan por el instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente. El análisis de la tasa y la cantidad del aumento de CO_2 permite al instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente determinar si el vial es positivo, es decir, que la muestra contiene microorganismos viables.

REACTIVOS

Antes del procesamiento, los frascos de cultivo **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contienen los siguientes ingredientes activos:

Lista de ingredientes

Agua tratada	40 mL
Caldo digerido de soja-caseína	2,75% p/v
Extracto de levadura	0,2% p/v
Digerido de tejido animal	0,05% p/v
Dextrosa	0,2% p/v
Hemina	0,0005% p/v
Menadiona	0,00005% p/v
Citrato sódico	0,02% p/v
Tioles	0,1% p/v
Piruvato sódico	0,1% p/v
Saponina	0,26% p/v
Agente antiespumante	0,01% p/v
Polianetolsulfonato de sodio (SPS)	0,035% p/v

Todos los medios **BACTEC** se suministran con CO_2 añadido. Los medios anaerobios se prerreducen y se dispensan con CO_2 y N_2 añadidos. La composición puede haberse modificado de acuerdo con los criterios específicos de rendimiento.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Este producto contiene goma natural seca.

En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"[1-4] y las directrices del centro.

Se debe examinar cada frasco antes de usarlo para ver si presenta indicios de daño, contaminación o deterioro. No se debe usar ningún frasco que presente indicios de daño o contaminación, por ejemplo, derrames, turbidez, decoloración u oscurecimiento o el tampón hinchado o hundido.

Un frasco contaminado podría contener presión positiva. Si se utiliza un frasco contaminado en la toma directa, los medios de cultivo contaminados podrían refluirse a la vena del paciente. Es posible que la contaminación de un frasco no se note fácilmente. Cuando se usan procedimientos de toma directa, se debe controlar el proceso cuidadosamente para evitar que el líquido se refluya a la vena del paciente.

En raras ocasiones, es posible que un frasco no esté bien sellado; por consiguiente, el contenido del frasco puede gotear o derramarse Si se ha inoculado el frasco, se extremarán las precauciones al tratar la fuga o el derrame, ya que pueden existir organismos o agentes patógenos. Todos los frascos inoculados deben esterilizarse en autoclave antes de desecharse.

Frascos de cultivo positivo para subcultivo o para tinción, etc.: Antes de tomar las muestras es necesario liberar el gas que frecuentemente se acumula debido al metabolismo microbiano. La toma de muestras debe realizarse en lo posible en una cabina de seguridad biológica utilizando la indumentaria protectora adecuada, incluidos guantes y mascarilla. Consultar la sección de Procedimiento para mayor información acerca de los subcultivos.

Para reducir a un mínimo la posibilidad de pérdidas durante la inoculación de muestras en los frascos de cultivo, usar jeringas de aguja fija o puntas **Luer-Lok**.

Instrucciones para el almacenamiento

Los frascos **BACTEC** se suministran listos para usar y no requieren reconstitución ni dilución. Almacenar a 2 – 25 °C en un lugar seco, **fuera de la luz directa**.

RECOGIDA DE MUESTRAS

La muestra debe recogerse empleando técnicas estériles con objeto de reducir la posibilidad de contaminación. Estudios publicados han demostrado que el volumen de muestra recomendado es de 8 – 10 mL[5,6]. Se recomienda inocular la muestra en los frascos **BACTEC** junto a la cama del paciente. Para la extracción de la muestra normalmente se utiliza una jeringa de 10 cc o 20 cc con punta **Luer-Lok**. Si es necesario, se puede utilizar un soporte de aguja **Vacutainer** y un equipo de recogida de sangre **Vacutainer** o **Vacutainer Safety-Lok** u otro tubo de tipo «mariposa». Si se utiliza un conjunto de aguja y tubo (procedimiento de extracción directa), observe atentamente la dirección del flujo de la sangre cuando comience la extracción. El vacío en el vial será normalmente superior a 10 mL, de forma que el usuario debe de controlar el volumen recogido por medio de las marcas graduadas de 5 mL que aparecen en la etiqueta del vial. Una vez extraídos los 8 – 10 mL deseados, se debe detener el flujo poniendo una pinza en el tubo y quitando el juego de aguja y tubo del frasco **BACTEC**. Se pueden utilizar volúmenes de muestra de tan solo 3 mL, aunque la recuperación no será tan buena como con volúmenes mayores. **El frasco de BACTEC inoculado debe llevarse al laboratorio tan pronto como sea posible.**

PROCEDIMIENTO

Retirar el tapón a presión e inspeccionar el frasco **BACTEC** para detectar roturas, contaminación, turbidez excesiva del medio, hinchazón o hundimiento de la membrana. **NO UTILIZAR** si se observa algún defecto. Antes de la inoculación, limpiar la membrana con alcohol (**no** se recomienda utilizar yodo). Inyectar asépticamente o extraer directamente hasta 8 – 10 mL de la muestra por cada frasco.

Si se utilizan volúmenes de muestra de 3 – 4 mL, la recuperación no será tan buena como con volúmenes mayores (véase Limitaciones del procedimiento). **Los frascos anaerobios inoculados deben colocarse en los instrumentos BACTEC de la serie fluorescente lo antes posible** para la incubación y la monitorización. Si se retrasa la colocación de un frasco inoculado en el instrumento y se observa crecimiento visible, no debería de analizarse en el instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente, sino que más bien debería de realizarse un subcultivo con tinción Gram y considerarse un frasco presuntamente positivo.

Los frascos introducidos en el instrumento se analizarán automáticamente cada diez minutos durante la duración del período del protocolo de análisis. Los viales positivos se determinan y se identifican como tales por el instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente (consulte el Manual del usuario del instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente correspondiente). El sensor en el interior del frasco no tendrá un aspecto visiblemente diferente en los frascos positivos y negativos, no obstante el instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente puede determinar una diferencia en la fluorescencia.

La sangre será lisada inmediatamente al incorporarla al medio **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F. La sangre se verá chocolatizada o muy oscura al comienzo. Si al final del período de análisis se observa que un frasco **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F tiene una membrana hinchada, debe subcultivarse, teñirse mediante el método de Gram o considerarse como un frasco presuntamente positivo.

Se debe efectuar un subcultivo de los frascos positivos, así como teñir una muestra mediante el método de Gram. En la gran mayoría de los casos, se observarán microorganismos y se puede realizar un informe preliminar para el médico. Pueden realizarse subcultivos en medios selectivos y una prueba de sensibilidad antimicrobiana directa preliminar a partir del líquido de los frascos **BACTEC**.

Subcultivos: Antes de realizar el subcultivo, ponga el frasco en posición vertical y coloque un trozo de algodón empapado en alcohol sobre la membrana. Para eliminar la presión en el frasco, introduzcair una aguja estéril con un filtro o tapón adecuado a través del trozo de algodón empapado en alcohol y la membrana. La aguja debe retirarse después de haber descendido la presión y antes de tomar una muestra del frasco para efectuar un subcultivo. La inserción y retirada de la aguja deben realizarse moviendo la mano en línea recta, evitando movimientos giratorios.

Para lograr una recuperación óptima de aislados, los cultivos negativos pueden verificarse mediante teñido y/o subcultivo en cualquier momento antes de desecharse como negativos.

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones pertinentes del CLSI y la normativa de la CLIA para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

NO UTILIZAR los frascos después de la fecha de caducidad.

NO UTILIZAR los frascos que muestran indicios de agrietamientos o defectos; desechar el frasco de la forma apropiada.

Los certificados de control de calidad se incluyen con cada caja de medios. En los certificados de control de calidad aparecen los organismos de prueba, incluidos los cultivos ATCC especificados en los estándares del CLSI, *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*[7].

El intervalo de tiempo para la detección en horas era de ≤ 72 para cada uno de los microorganismos enumerados en el Certificado de control de calidad para este medio de cultivo:

Clostridium perfringens ATCC 13124	*Bacteroides fragilis** ATCC 25285	*Bacteroides vulgatus* ATCC 8482
Streptococcus pneumoniae ATCC 6305	*Escherichia coli* ATCC 25922	*Staphylococcus aureus* ATCC 25923
Clostridium histolyticum ATCC 19401		

*Cepa del CLSI

Para obtener información sobre el control de calidad del instrumento **BACTEC** de la serie fluorescente, consulte el manual del usuario de dicho instrumento.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Contaminación

Se deben extremar las precauciones para evitar contaminar la muestra durante la obtención e inoculación en el frasco **BACTEC**. Una muestra contaminada dará una lectura positiva pero no indicará un resultado clínicamente relevante. El usuario debe tomar tal determinación teniendo en cuenta factores tales como el tipo de organismos aislados, la presencia del mismo organismo en varios cultivos, la historia clínica del paciente, etc.

Aislamiento de organismos sensibles a SPS a partir de muestras sanguíneas

Dado que la sangre puede neutralizar la toxicidad de PSS hacia microorganismos sensibles al mismo (como *P. anaerobius*), la presencia del máximo volumen posible de sangre (es decir, hasta 10 mL) puede contribuir a optimizar el aislamiento de dichos microorganismos. Con el fin de mejorar el crecimiento de microorganismos sensibles a PSS en los casos en que se inocula menos de 8 mL, se puede añadir más sangre humana completa.

Algunos microorganismos exigentes como determinadas especies de *Haemophilus* requieren factores de crecimiento tales como NAD o factor V que se proporcionan por la muestra de sangre. Si el volumen de la muestra de sangre es de 3,0 mL o inferior, puede ser necesario añadir un suplemento para la recuperación de estos microorganismos. Como suplemento nutricional puede utilizarse **BACTEC FOS** Fastidious Organism Supplement (suplemento para organismos exigentes).

Organismos no viables

Un frotis con tinción Gram procedente de un medio de cultivo puede contener pequeñas cantidades de microorganismos no viables procedentes de componentes del medio, reactivos de tinción, aceite de inmersión, portaobjetos de vidrio y muestras utilizadas para la inoculación. Además, la muestra del paciente puede contener microorganismos que no crecen en el medio de cultivo o en los medios utilizados para el subcultivo. Este tipo de muestras deben subcultivarse en medios apropiados como se precise[8].

Consideraciones generales

La recuperación óptima de aislados se conseguirá añadiendo 8 – 10 mL de sangre[5,6]. El uso de volúmenes menores o mayores puede afectar negativamente a la recuperación y/o tiempos de detección. La sangre puede contener sustancias anti-microbianas u otros

inhibidores que pueden retrasar o impedir el crecimiento de microorganismos. Se pueden obtener resultados falsamente negativos cuando se encuentran presentes ciertos organismos cuya producción de CO_2 no es suficiente para que el sistema lo detecte o si hubo crecimiento apreciable antes de haberse colocado el frasco en el sistema. Pueden producirse falsos negativos cuando el recuento de glóbulos blancos es alto. El protocolo predeterminado de 5 días se utilizó en todos los ensayos analíticos realizados con este dispositivo y no se han evaluado protocolos de más de 5 días.

RESULTADOS PREVISTOS

El rendimiento del medio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F en viales de vidrio ha sido determinado en varios estudios clínicos externos publicados[9,10]. Estudios de laboratorio realizados por BD con medios de siembra, han mostrado un rendimiento equivalente del medio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F en viales de plástico comparado con el medio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F en viales de vidrio[11].

Se evaluaron un total de 342 grupos pareados, con de 10 a 100 UFC por vial, para evaluar su aislamiento mediante cultivo, y se obtuvo un porcentaje de aislamiento del 100 % tanto con medio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenido en vial de plástico, como con medio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenido en vial de vidrio. Este estudio incluyó un grupo variado de microorganismos aerobios y anaerobios, frecuentemente aislados en sangre. La diferencia en los tiempos de detección (TTD) medios entre los dos grupos pareados fue de 10 minutos a favor del medio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenido en vial de plástico. El noventa y cinco por ciento de las diferencias en los TTD entre los grupos pareados variaron entre -1,68 horas de detección más rápida en vial de vidrio y 3 horas de detección más rápida en vial de plástico.

En los estudios analíticos se evaluaron los siguientes microorganismos anaerobios: *Bacteroides fragilis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*, *Clostridium histolyticum*, *C. novyi*, *C. perfringens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas asaccharolytica* (anteriormente *Bacteroides melaninogenicus* subespecie *asaccharolyticus*) y *Veilonella parvula*. También se hizo la prueba con el microorganismo anaerobio facultativo *S. pneumoniae*.

Un subgrupo de microorganismos, que incluía a *Finegoldia magna* (anteriormente *Peptostreptococcus magnus*) y *Peptoniphilus asaccharolyticus* (anteriormente *Peptostreptococcus asaccharolyticus*) se evaluó en el instrumento **BD BACTEC** FX, con de 10 a 100 UFC por vial, y se obtuvo un porcentaje de aislamiento del 100 % tanto en medio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenido en vial de plástico como en medio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenido en vial de vidrio.

En análisis del límite de detección microbiano, se evaluaron un total de 312 grupos pareados, con concentraciones de inóculo de 0 a 1 y de 1 a 10 UFC por vial. Este estudio se diseñó para evaluar la capacidad de los medios de hemocultivo **BD BACTEC** analizados para detectar una única UFC, en caso de estar presente. De los 312 grupos pareados analizados, crecieron 191 y fueron detectados en los dos dispositivos, y 44 no fueron detectados en ninguno de ellos. Veintinueve (29) cultivos crecieron y fueron detectados solamente en el medio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenido en vial de vidrio. Cuarenta y ocho (48) cultivos crecieron y fueron detectados solamente en el medio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenido en vial de plástico. Solo una de 12 muestras idénticas de *Porphyromonas asaccharolytica* (ATCC 25260, 4 UFC por botella) no pudo ser detectada en el medio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contenido en vial de plástico. Un análisis de señales mostró la no evidencia de crecimiento en esa muestra duplicada y un subcultivo terminal tampoco presentó crecimiento, lo que indica que probablemente en el vial no se habían inoculado microorganismos viables.

DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	**Descripción**
442021	**BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F Culture Vials

REFERENCIAS: Ver “References” en el texto en inglés.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD.

BD BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F Culture Vials

Meio Líquido de Soja-Caseína Digerida em frasco de plástico

Português

UTILIZAÇÃO PREVISTA

Os frascos de cultura **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F (Meio Líquido de Soja-Caseína Digerida previamente reduzido e enriquecido com CO_2) destinam-se a serem utilizados em hemoculturas anaeróbias. Devem ser utilizados principalmente com os instrumentos da série **BACTEC** para a cultura e isolamento qualitativos de microrganismos anaeróbios a partir do sangue.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

A amostra a ser testada é inoculada dentro de um ou mais frascos, os quais são introduzidos dentro do instrumento **BACTEC** da série fluorescente, para incubação e leituras periódicas. Cada frasco contém um sensor químico que consegue detectar aumentos no CO_2 produzido pelo crescimento dos microrganismos. O sensor é monitorizado pelo instrumento a cada dez minutos relativamente ao aumento da respectiva fluorescência, proporcional à quantidade de CO_2 presente. Uma leitura positiva indica a presença presumida de microrganismos viáveis no frasco. A detecção está limitada aos microrganismos que crescerão num tipo de meio específico.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

Se existirem microrganismos na amostra de teste inoculada dentro do frasco **BACTEC**, ocorrerá a produção de CO_2 quando os organismos metabolizarem os substratos presentes no frasco. Os aumentos na fluorescência do sensor do frasco provocados pelo aumento na quantidade de CO_2 são monitorizados pelo instrumento **BACTEC** da série fluorescente. A análise da velocidade e da quantificação do aumento do CO_2 permite ao instrumento **BACTEC** da série fluorescente determinar se a leitura do frasco é positiva, ou seja, se a amostra testada contém organismos viáveis.

REAGENTES

Antes do processamento, os frascos de cultura **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contêm os seguintes ingredientes activos:

Lista de Ingredientes

Água Processada .....40 mL
Meio Líquido de Soja-Caseína Digerida.....2,75% p/v
Extracto de levedura.....0,2% p/v
Tecido Animal Digerido .....0,05% p/v
Dextrose .....0,2% p/v
Hemina .....0,0005% p/v
Menadiona.....0,00005% p/v
Citrato de sódio .....0,02% p/v
Tióis .....0,1% p/v
Piruvato de Sódio .....0,1% p/v
Saponina .....0,26% p/v
Agente Anti-espuma .....0,01% p/v
Polianetolsulfonato de Sódio (SPS) .....0,035% p/v

Todos os meios **BACTEC** são distribuídos com CO_2 adicionado. Os meios anaeróbios são previamente reduzidos e distribuídos com CO_2 e N_2 adicionados. A composição pode ter sido ajustada para cumprir exigências de desempenho específicas.

Avisos e Precauções

Para diagnóstico *in vitro*.

Este produto contém borracha natural seca.

Nas amostras podem existir microorganismos patogénicos, incluindo os vírus das hepatites e o vírus da imunodeficiência humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue e outros fluidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções padrão"[1-4] e as linhas de orientação da instituição.

Antes de ser utilizado, cada frasco deve ser examinado relativamente a danos, contaminação ou deterioração. Os frascos que apresentem sinais de danos ou de contaminação, tais como fugas, turvação, descoloração (escurecimento), e abaulamento ou depressão do septo, não devem ser utilizados.

Um frasco contaminado pode conter uma pressão positiva. Se for utilizado um frasco contaminado para colheita directa, poderá haver um refluxo do meio de cultura contaminado para dentro da veia do doente. A contaminação do frasco pode não ser imediatamente aparente. Quando utilizar procedimentos de colheita directa, monitorize cuidadosamente o processo de forma a evitar o refluxo de materiais para o doente.

Em raras ocasiões, um frasco poderá não se encontrar suficientemente selado e tal pode originar uma fuga ou o derrame do conteúdo do frasco. Se o frasco tiver sido inoculado, trate a fuga ou o derrame com cuidado pois podem existir organismos/agentes patogénicos. Antes da eliminação, esterilize todos os frascos inoculados em autoclave.

Frascos de cultura positivos para repicagem ou coloração, etc.: Antes da colheita de amostras, é necessário libertar o gás frequentemente produzido devido ao metabolismo microbiano. Se possível, a colheita de amostras deverá ser efectuada numa câmara de segurança biológica e utilizando vestuário protector, incluindo luvas e máscaras. Consulte a secção Procedimento para obter mais informações sobre a repicagem.

Para minimizar a possibilidade de fugas durante a inoculação da amostra dentro dos frascos de cultura, utilize seringas com agulhas fixas ou pontas da marca **Luer-Lok**.

Instruções de Armazenamento

Os frascos **BACTEC** encontram-se prontos a serem utilizados tal como são recebidos e não necessitam de reconstituição ou diluição. Armazene entre 2 e 25 °C, num local seco e **sem luz directa**.

COLHEITA DE AMOSTRAS

A colheita de amostras deve ser efectuada utilizando técnicas estéreis, de forma a diminuir a possibilidade de contaminação. Os estudos publicados demonstraram que o volume de amostra recomendado é de 8 – 10 mL.[5,6] Recomenda-se que a inoculação da amostra nos frascos **BACTEC** seja efectuada na cabeceira do doente. Para a colheita da amostra, é utilizada frequentemente uma seringa de 10cc ou 20cc com uma ponta da marca **Luer-Lok**. Se for apropriado, podem ser utilizados um Suporte de Agulha da marca **Vacutainer** e um Conjunto de Colheita de Sangue da marca **Vacutainer**, um Conjunto de Colheita de Sangue **Vacutainer Safety-Lok** ou outro conjunto de "borboleta" com tubagem. Se utilizar uma agulha e um conjunto com tubagem (colheita directa), observe cuidadosamente a direcção do fluxo do sangue quando iniciar a colheita da amostra. O vácuo no frasco excederá habitualmente os 10 mL, devendo por isso o utilizador monitorizar o volume colhido através das marcas da graduação de 5 mL existentes no rótulo do frasco. Quando tiver sido colhido o volume de 8 a 10 mL pretendido, o fluxo deverá ser interrompido comprimindo a tubagem e removendo o conjunto da tubagem do frasco **BACTEC**. Podem ser utilizadas amostras com um volume inferior a 3 mL, no entanto, o isolamento será menor do que aquele conseguido com volumes superiores. **O frasco BACTEC inoculado deverá ser transportado o mais rapidamente possível para o laboratório.**

PROCEDIMENTO

Retire a tampa de encaixe do topo do frasco **BACTEC** e inspeccione-o relativamente à existência de rachas, contaminação, turvação excessiva e abaulamento ou amolgadelas da tampa. Se for detectado algum defeito, **NÃO UTILIZAR.** Antes de inocular, limpe o septo com álcool (o iodo **não** é recomendado). Efectue a injecção asséptica ou a colheita directa de 8 – 10 mL de amostra por frasco. Se forem utilizados volumes de amostras de 3 – 4 mL, o isolamento será menor do que aquele conseguido com volumes superiores (consulte Limitações do Procedimento). **Os frascos anaeróbios inoculados devem ser colocados, o mais rapidamente possível, no instrumento da série fluorescente BACTEC** para a incubação e monitorização. Se ocorrer algum atraso na colocação do frasco inoculado dentro do instrumento e existir crescimento visível, o frasco não deverá ser testado no instrumento **BACTEC** da série fluorescente; em vez disso, deverá ser efectuada uma repicagem e a coloração Gram, devendo o frasco ser manipulado como um frasco presumidamente positivo.

Os frascos introduzidos dentro do instrumento serão automaticamente testados a cada dez minutos durante o período de duração do protocolo do teste. O instrumento da série fluorescente **BACTEC** determinará e identificará os frascos positivos (consulte o Manual do Utilizador do instrumento da série fluorescente **BACTEC** apropriado). O sensor no interior do frasco não apresentará diferenças visíveis entre os frascos positivos e os negativos; no entanto, o instrumento **BACTEC** da série fluorescente consegue detectar diferenças de fluorescência.

A lise do sangue ocorrerá imediatamente após a adição do Meio **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F. Inicialmente, o sangue apresentar-se-á com cor de chocolate ou com cor muito escura. Se no fim do período de teste, um frasco do Meio **BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F apresentar um abaulamento do septo, deverá ser efectuada uma repicagem e coloração Gram ou o frasco deverá ser manipulado como um frasco presuntivamente positivo.

Deverá ser efectuada uma repicagem dos frascos de cultura positivos, seguida da preparação de uma lâmina com coloração Gram. Na grande maioria dos casos, os organismos serão observados e poderá ser efectuado um relatório preliminar para o médico. A partir do líquido nos frascos **BACTEC**, podem ser preparadas repicagens em meios selectivos, bem como um teste de susceptibilidade antimicrobiana directa preliminar.

Repicagem: Antes de efectuar a repicagem, coloque o frasco na posição vertical e coloque uma compressa com álcool sobre o septo. Para libertar a pressão no frasco, introduza uma agulha estéril com um filtro ou um tampão apropriado através da compressa com álcool e do septo. A agulha deverá ser retirada após a libertação da pressão e antes da recolha da amostra do frasco para repicagem. A introdução e a remoção da agulha devem ser efectuadas com um movimento em linha recta, evitando quaisquer movimentos de torção.

Para uma produção máxima de isolados, as culturas negativas poderão ser verificadas, em qualquer momento, através da coloração e/ou da realização de repicagens, antes de serem eliminadas como negativas.

CONTROLO DE QUALIDADE

Os requisitos de controlo da qualidade têm de ser realizados de acordo com os regulamentos ou as exigências de acreditação aplicáveis locais, estaduais e/ou federais [EUA] e os procedimentos de Controlo da Qualidade em vigor no laboratório. É recomendado que o utilizador consulte as orientações do CLSI e os regulamentos da CLIA pertinentes sobre as práticas de controlo de qualidade apropriadas.

NÃO UTILIZE os frascos de cultura que tenham ultrapassado o prazo de validade.

NÃO UTILIZE frascos de cultura que apresentem fendas ou defeitos; elimine o frasco de forma apropriada.

Em cada caixa de meios de cultura, são fornecidos Certificados do Controlo de Qualidade. Os Certificados do Controlo de Qualidade contêm uma lista dos organismos para teste, incluindo as culturas ATCC especificadas na Norma CLSI, *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media* (Controlo de Qualidade para os Meios de Cultura Preparados Comercialmente).[7]

O intervalo de tempo em horas até à detecção foi ≤ 72 h, para cada um dos organismos referidos no Certificado do Controlo de Qualidade para este meio:

Clostridium perfringens ATCC 13124
Streptococcus pneumoniae ATCC 6305
Clostridium histolyticum ATCC 19401
*Bacteroides fragilis** ATCC 25285
Escherichia coli ATCC 25922
Bacteroides vulgatus ATCC 8482
Staphylococcus aureus ATCC 25923

*Estirpe CLSI

Para obter informações sobre o Controlo de Qualidade para o instrumento da série fluorescente **BACTEC**, consulte o Manual do Utilizador do instrumento da série fluorescente **BACTEC** apropriado.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Contaminação

Deverá tomar precauções para evitar a contaminação da amostra durante a colheita e a inoculação dentro do frasco **BACTEC**. Uma amostra contaminada apresentará uma leitura positiva, mas não indicará um resultado clinicamente relevante. Tal determinação deverá ser efectuada pelo utilizador com base em factores tais como, o tipo de organismos isolados, a ocorrência do mesmo organismo em culturas múltiplas, a história do doente, etc.

Isolamento de Organismos Sensíveis ao SPS a partir de Amostras de Sangue

Uma vez que o sangue pode neutralizar a toxicidade do SPS para os organismos sensíveis ao SPS (tais como *P. anaerobius*), a presença de volumes máximos de sangue (ou seja, até 10 mL) pode constituir uma vantagem para o isolamento destes organismos. Para aumentar o crescimento de organismos sensíveis ao SPS quando são inoculados volumes de sangue inferiores a 8 mL, poderá ser adicionado sangue total humano.

Alguns organismos de crescimento lento, tais como certas espécies de *Haemophilus*, necessitam de factores de crescimento, tais como o NAD ou factor V, os quais são fornecidos pela amostra de sangue. Se o volume da amostra de sangue for de 3,0 mL ou inferior, poderá ser necessário um suplemento adequado para o isolamento destes organismos. O **BACTEC FOS** Fastidious Organism Supplement (Suplemento para Organismos de Crescimento Lento) pode ser utilizado como suplemento nutritivo.

Organismos Não Viáveis

Um esfregaço com a coloração Gram, obtido a partir de um meio de cultura, pode conter números reduzidos de organismos não viáveis derivados dos constituintes dos meios, dos reagentes da coloração, do óleo de imersão, das lâminas de vidro e das amostras utilizadas para a inoculação. Além disso, a amostra do doente pode conter organismos que não crescerão no meio de cultura ou no meio utilizado para a repicagem. Se for apropriado, pode ser efectuada uma repicagem dessas amostras num meio especial.[8]

Considerações Gerais

A detecção óptima de isolados será obtida adicionando 8 a 10 mL de sangue.[5,6] A utilização de volumes inferiores ou superiores pode afectar de forma adversa o período de tempo de isolamento e/ou detecção. O sangue pode conter antimicrobianos ou outros inibidores, os quais podem atrasar ou impedir o crescimento de microorganismos. Poderão ocorrer leituras falsas negativas quando estiverem presentes certos organismos que não produzam CO_2 suficiente para ser detectado pelo sistema, ou se tiver ocorrido um crescimento significativo antes da colocação do frasco dentro do sistema. A falsa positividade pode ocorrer quando a contagem de glóbulos brancos é elevada. O protocolo predefinido de 5 dias foi utilizado para todos os testes analíticos com este dispositivo; os protocolos com mais de 5 dias não foram avaliados.

RESULTADOS ESPERADOS

O desempenho do meio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F em frascos de vidro foi estabelecido numa série de estudos clínicos externos publicados.[9,10] Os estudos laboratoriais de culturas semeadas efectuados pela BD demonstraram um desempenho equivalente do meio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobi/F em frascos de plástico em comparação com o **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F em frascos de vidro.[11]

Quanto ao isolamento, foi avaliado um total de 342 conjuntos emparelhados com 10 a 100 CFU, demonstrando-se 100% de isolamento tanto no meio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F em frasco de plástico como no meio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F em frasco de vidro. Este estudo incluiu um conjunto diverso de microrganismos anaeróbios e aeróbios isolados frequentemente no sangue. A diferença em tempo médio de detecção (TTD) entre os conjuntos emparelhados foi de 10 minutos a favor do meio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F em frasco de plástico. Noventa e cinco porcento das diferenças de TTD entre os conjuntos emparelhados traduziram-se em -1,68 horas de maior rapidez para o frasco de vidro e 3 horas de maior rapidez para o frasco de plástico.

Os seguintes anaeróbios foram avaliados nos estudos analíticos: *Bacteroides fragilis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*, *Clostridium histolyticum*, *C. novyi*, *C. perfringens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas asaccharolytica* (anteriormente denominado *Bacteroides melaninogenicus* subsp. *asaccharolyticus*) e *Veilonella parvula*. O anaeróbio facultativo *S. pneumoniae* também foi testado.

Um subconjunto de organismos, incluindo *Finegoldia magna* (anteriormente denominado *Peptostreptococcus magnus*) e *Peptoniphilus asaccharolyticus* (anteriormente denominado *Peptostreptococcus asaccharolyticus*) foi avaliado no instrumento **BD BACTEC** FX com 10 a 100 CFU por frasco, demonstrando-se 100% de isolamento tanto no meio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F em frasco de plástico como no meio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F em frasco de vidro.

Nos testes de limite de detecção microbiana, foi avaliado um total de 312 conjuntos emparelhados a níveis de inóculo de 0 a 1 e de 1 a 10 CFU por frasco. Este estudo foi concebido para avaliar a capacidade dos meios de hemocultura **BD BACTEC** de detectarem uma CFU, quando presente. Dos 312 conjuntos emparelhados testados, 191 cresceram e foram detectados em ambos os dispositivos e 44 não foram detectados em nenhum deles. Vinte e nove (29) culturas cresceram e foram detectadas apenas no meio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contido num frasco de vidro. Quarenta e oito (48) culturas cresceram e foram detectadas apenas no meio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contido num frasco de plástico. Um dos 12 replicados do *Porphyromonas asaccharolytica* (ATCC 25260, 4 CFU por frasco) não foi detectado no meio **BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F contido num frasco de plástico. A análise de sinais não demonstrou evidência de crescimento no replicado e uma subcultura terminal não produziu crescimento, o que indica que provavelmente não havia organismos inoculados viáveis no frasco.

APRESENTAÇÃO

Nº. de cat.	**Descrição**
442021	**BD BACTEC** Lytic/10 Anaerobic/F Culture Vials

BIBLIOGRAFIA: Consulte “References” no texto em Inglês.

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD.

Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabbricante / Атқарушы / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător / Производитель / Výrobca / Proizvođač / Tillverkare / Üretici / Виробник

Use by / Използвайте до / Spotřebujte do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / Upotrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейін пайдалануға / Naudokite iki / Izlietot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Использовать до / Použite do / Upotrebiti do / Använd före / Son kullanma tarihi / Використати до\line
YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce)
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutning af måned)
JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)
EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes)
AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)
AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)
GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)
ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)
AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)
ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА / (АА = айдың соңы)
MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mėnesio pabaiga)
GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mēneša beigas)
JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutten av måneden)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês)
AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârşitul lunii)
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiaca)
GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutet av månaden)
YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu)
PPPP-ММ-ДД / PPPP-ММ (ММ = кінець місяця)

REF

Catalog number / Каталожен номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo / Katalooginumber / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Каталог нөмірі / Katalogo numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталору / Katalógové číslo / Kataloški broj / Katalog numarası / Номер за каталогом

EC REP

Authorized Representative in the European Community / Оторизиран представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret repræsentant i De Europæiske Fællesskaber / Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Représentant autorisé pour la Communauté européenne / Autorizuirani predstavnik u Europskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej / Representante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentantul autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavništvo u Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Avrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi / Уповноважений представник у країнах ЄС

IVD

In Vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жағдайда жүргізетін медициналық диагностика аспабы / In vitro diagnostikos prietaisas / Medicīnas ierīces, ko lieto in vitro diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Medicínska pomôcka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / İn Vitro Diyagnostik Tıbbi Cihaz / Медичний пристрій для діагностики in vitro

Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperatuuri piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температураны шектеу / Laikymo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperatuurlimiet / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ohraničenie teploty / Ograničenje temperature / Temperaturgräns / Sıcaklık sınırlaması / Обмеження температури

LOT

Batch Code (Lot) / Код на партидата / Kód (číslo) šarže / Batch-kode (lot) / Batch-Code (Charge) / Κωδικός παρτίδας (παρτίδα) / Código de lote (lote) / Partii kood / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotto) / Топтама коды / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-kode (parti) / Kod partii (seria) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (лот) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partinummer (Lot) / Parti Kodu (Lot) / Код партії

Contains sufficient for <n> tests / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις / Contenido suficiente para <n> pruebas / Küllaldane <n> testide jaoks / Contenu suffisant pour <n> tests / Sadržaj za <n> testova / <n> teszthez elegendő / Contenuto sufficiente per <n> test / <n> тесттері үшін жеткілікті / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Satur pietiekami <n> pārbaudēm / Inhoud voldoende voor “n” testen / Innholder tilstrekkelig til <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Conteúdo suficiente para <n> testes / Conţinut suficient pentru <n> teste / Достаточно для <n> тестов(а) / Obsah vystačí na <n> testov / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Innehåller tillräckligt för <n> analyser / <n> test için yeterli malzeme içerir / Вистачить для аналізів: <n>

Consult Instructions for Use / Направете справка в инструкциите за употреба / Prostudujte pokyny k použití / Se brugsanvisningen / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Consultar las instrucciones de uso / Lugeda kasutusjuhendit / Consulter la notice d’emploi / Koristi upute za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l’uso / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Skatīt lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultaţi instrucţiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používanie / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se bruksanvisningen / Kullanım Talimatları’na başvurun / Див. інструкції з використання

Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA

EC REP Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD.